

## CITATION 3

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-121637

(43)公開日 平成6年(1994)5月6日

(51)Int.Cl. <sup>5</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 2 3 C 3/00				
A 0 1 J 11/06				

審査請求 未請求 請求項の数15(全 4 頁)

(21)出願番号	特願平3-208086	(71)出願人	390035378
(22)出願日	平成3年(1991)8月20日		バイオテスト・アクチエンゲゼルシャフト
(31)優先権主張番号	P 4 0 2 6 3 6 5 7		ドイツ連邦共和国、ドライアイヒ、ラント
(32)優先日	1990年8月21日	(72)発明者	ヘンリー・ヒース
(33)優先権主張国	ドイツ (DE)		ドイツ連邦共和国、レーデルマルク、シュ
			タインウエーク、4
		(72)発明者	ウオルフガング・メーレル
			ドイツ連邦共和国、オーバーウルセル、グ
			ラーブーフオンーシュタウフェンベルク
			ストラッセ、32
		(74)代理人	弁理士 江崎 光史 (外3名)
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 滅菌濾過された初乳

(57)【要約】

【目的】 滅菌濾過された、カゼイン含有初乳及びその製造方法

【構成】 初乳を2.5-3.5のpH-値に調整し、次いで澄明濾過及び滅菌濾過し、好ましくは初乳をこの処理前に脱脂し、酸処理後濾過操作の前に5.5-8のpH-値に調整する。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 カゼインを含有し、滅菌濾過されていることを特徴とする初乳。

【請求項2】 天然カゼイン含有量を全く減少しないか又はほんの僅かにしか減少しない請求項1記載の初乳。

【請求項3】 初乳は家畜から由来する請求項1記載の初乳。

【請求項4】 初乳を脱脂する請求項1ないし3のいずれかに記載の初乳。

【請求項5】 たん白質含有量は、1～120g/lである請求項1ないし4のいずれかに記載の初乳。

【請求項6】 たん白質含有量は、1～50g/lである請求項5記載の初乳。

【請求項7】 乳糖含有量は、100mg/l以下である請求項1ないし6記載の初乳。

【請求項8】 a) 場合により希釈された初乳を、最初に沈殿するカゼインが再び溶解するまで酸性化し、b) 得られた溶液を滅菌濾過することを特徴とする、請求項1記載の滅菌濾過された、カゼイン-含有初乳の取得方法。

【請求項9】 初乳のpH-値を、2.5～3.5に調整する請求項8記載の方法。

【請求項10】 pH-値を、濾過前に再びpH5.5～8に調整する請求項8又は9記載の方法。

【請求項11】 滅菌前に澄明濾過を実施する請求項8ないし10のいずれかに記載の方法。

【請求項12】 濾過に際して濾過助剤を使用する請求項8ないし11のいずれかに記載の方法。

【請求項13】 濾過助剤としてヒフロースーパーセル(Hyflo-SuperCell)を使用する請求項8ないし12のいずれかに記載の方法。

【請求項14】 初乳を酸沈殿の前に脱脂する請求項8ないし13のいずれかに記載の方法。

【請求項15】 澄明-及び滅菌濾過は、濾過材-又は膜濾過器を介して行われる請求項8ないし14のいずれかに記載の方法。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業得の利用分野】本発明は、特許請求の範囲で詳細に特徴づけられた初乳及びその製造方法に関する。

【0002】

【従来の技術】子牛分娩後最初の30時間内に取り出される、牛の初乳は、1gG、1gA及び1gMの高濃度を有し、その通常のたん白質組成物の形で、分娩後第一日目に子牛に特に腸疾患細菌に対する受動免疫を付与するのに最も適する。初乳のこの性質は、初乳-免疫グロブリンを単離し、これをヒトに於て特に胃腸障害の治療に使用する多くの処置を開発することを導く。

【0003】たとえばドイツ特許第2,813,984号明細書、ドイツ特許第3,432,718号明細書、

ヨーロッパ特許第102,831号明細書、米国特許第4,784,850号及び第4,834,974号明細書中に初乳から免疫グロブリン含有製剤を製造することが記載されている。この製剤は、免疫グロブリンと共に部分的にまだ他のたん白質を含有する。しかしすべての製剤の共通していることは、これを初乳清から製造し、その後前もってカゼインを酸沈殿又は酵素処理によって沈殿させ、分離することである。カゼインの分離は、初乳を滅菌濾過又は限外濾過しなければならない、すべての場合に不可欠である。

【0004】家畜の初乳は、約12%のたん白質濃度を有し、細胞質の粒子の共に多数の細菌を含有する。

【0005】粗製初乳中の細菌含有量は、mlあたり10<sup>6</sup> - 10<sup>8</sup> 菌であり、一方通常の牛乳はmlあたり10<sup>3</sup> - 10<sup>4</sup> 菌である。たとえば71-74℃で15～40秒間又は85-90℃で1～4秒間低温滅菌して、病原菌の含有量はほぼ1-20力値下げることができるが、牛乳は相変らず極めて著しく細菌で汚染されている。保存の際に、この又は新たに加わった細菌が再び増加し、特に胃腸障害での初乳の治療的使用で危険な副作用を導く。

【0006】米国特許第3,911,108号明細書中に初乳及びその誘導単をβ-P.Lで滅菌することが記載されている。他の方法はたとえば初乳のガンマ-照射である。しかし2つの方法は、たん白質の部分的な変性を生じる。

【0007】簡単な、有効なかつたん白質を保護する、細菌除去方法、すなわち滅菌濾過は初乳にとって不可能である。というのは特にカゼインが直ちに濾過器の目を詰まらせるからである。この理由から、滅菌濾過可能な又は限外濾過可能な製剤が得られるすべての方法は、場合により脱脂された乳清を出発材料として使用する。乳清の製造の際に、カゼインを酸-又は酵素作用によって沈殿させ、遠心分離して分離する。次いで生じる乳清又はこれから単離された分画を、限外濾過し、滅菌濾過することができる。

【0008】ドイツ特許第2,813,984号明細書中に、乳脂除去及び澄明化(カゼイン沈殿)を、濾過器及び限外濾過器の後続の目詰りを回避するために、極めてゆるく作動させねばならないと、明らかに指摘されている。

【0009】しかし沈殿によるカゼインの分離は、初乳の次の使用又は精製後処理に著しい欠点を有する：

1. 沈殿及び共沈をカゼインで包むことによって、免疫グロブリンの損失はこの段階で40%までである。
2. カゼイン-沈殿の遠心分離は経費のかかる工程であり、免疫グロブリンの収量が大きいほど、この工程は経費がかかる。
3. カゼイン自体は、有効な治療に使用できる性質を有し、それは特に胃腸障害での免疫グロブリンの作用を保

護する。カゼインからアヘン様作用を遊離する。この作用は腸運動の阻害及び電解質-及び水吸収の促進を生じる。この作用は損傷のないカゼインが原因である(レカー(Recker)、B., Physis 1/89, 32)。

【0010】一般に初乳をできる限り僅かにそのたん白質組成で変化させるのが望ましい。というのは初乳が胃腸感染及び障害にまさに最適に構成されているからである。免疫グロブリン及びカゼインと共に、他のたん白質、リゾチーム、ラクトフェリン及びパーオキシダーゼは、細菌感染の予防に受容な役割を果たす。しかしこの重要なたん白質の大部分を、カゼイン-沈殿及び低温滅菌で分離又は不活性化する。

【0011】

【発明が解決しようとする課題】したがって本発明は、初乳から滅菌濾過によって細菌を除去する方法を開発することを目的とし、その際もとの初乳のできる限りすべてのたん白質成分を十分に維持することである。

【0012】

【課題を解決するための手段】今や、本発明者は、驚くべきことに場合により脱脂された初乳を、3.5以下のpH-値に酸性化した場合、前もってカゼイン-分画を除去することなく初乳を澄明濾過及び滅菌濾過することができることを見出した。pH-値が低下すると、カゼインはpH4~5で沈殿するが、pH-値のより一層の減少によって溶解する。この酸性溶液を、初乳に対するその性質に従って滅菌濾過できるまで変化させる。

【0013】この方法で酸性化された初乳を、濾過の前に再びその開始-pH-値に調整することもできる。pH-値のこの後退で、カゼインはpH4~5で新たに沈殿し、約pH5.5から再び溶解する。得られた初乳は、驚くべきことに3.5以下のpH-値を有する酸性脱脂初乳に比してしかもまだ少しより良い濾過ができる。

【0014】pH-値の低下で、カゼインが再び溶解するまで、カゼインをほんの短時間沈殿した状態で保ち、次いでpH-値を一気に更に下げるのが重要である。カゼイン-沈殿を沈降物としてあまりにも長く存在させ、極めて長い時間後に初めて溶解する場合、初乳の濾過可能性は明らかに悪くなる。

【0015】好ましい本発明の実施形態は、初乳を公知操作で脱脂し、NaCl-溶液で20g/lのたん白質含有量に希釈することにある。塩酸の急速な添加によって、脱脂された初乳のpH-値をpH2.0~3.5、好ましくは2.8~3.2に調整し、酸性化で生じる沈殿を再び溶解する。温度は、免疫グロブリンの変性を回避するために、酸処理の後に45℃以上であってはならない。

【0016】場合によりpH-値を、直ちに又は数時間後に再び苛性ソーダ溶液で脱脂初乳のもとの値に調整する。pH-値のこの上昇で、カゼインは再び沈殿し、直

ちに再び溶解する。

【0017】この処理に使用される脱脂初乳を、公知方法で容易に滅菌濾過又は限外濾過することができる。たとえば脱脂初乳を濾過材濾過器で澄明濾過することができる。滅菌濾過の前又はその後に、本発明により処理された、脱脂初乳の限外濾過又は透析濾過も可能である。

【0018】濾過助剤、たとえばヒフロ(Hyflo)スーパーセルを濾過で使用する場合、濾過可能性を更に改良することができる。

10 【0019】滅菌濾過された、脱脂初乳を、20~70g/lのたん白質含有量に調整するのが好ましいが、120g/lにまで濃縮することもできる。透析濾過によって、乳糖の濃度を下げ、イオン媒体を、得られた製剤が特に胃腸障害の治療的使用に適する様に調整する。その上滅菌濾過された脱脂初乳を、凍結乾燥するか又はそのたん白質成分を分画することができる。

【0020】濾過を脱脂初乳を用いて実施するのが好ましいが、本発明による方法は、非脱脂初乳にも適する。濾過割合は脱脂初乳に於けるよりも明らかに小さいが、酸処理されていない初乳に於けるよりも依然として著しく改良される。

【0021】

【実施例】次の例で、本発明を詳細に説明する。

【0022】〔例1〕凍結された初乳500mlに、水500mlを加え、37℃で解凍する。遠心分離して、脂質-分画を分離し、得られた脱脂初乳を100mM NaCl-溶液2000mlで希釈する。

30 【0023】1N塩酸で、pH-値を30秒以内でpH3.0に調整する。1時間後、溶液(約3l)を0.5バールの圧力で濾過面積150cm<sup>2</sup>を有する濾過材濾過器(Supra 80, サイツ社)を介して澄明濾過する。澄明濾過に続いて、膜5μ/1.2μ/0.65μ/0.22μを有する膜フィルター組合せを介して滅菌濾過する。

【0024】比較として、初乳を同一方法で脱脂し、希釈する。勿論pH3.0に酸性化しない。この脱脂初乳から濾過材濾過器を介して3バールの高圧下150mlしか濾過できなかった。膜フィルターによる滅菌濾過は不可能であった。

40 【0025】〔例2〕初乳500mlを、例1に於けると同様にpH3.0に酸性化する。2時間後、pH-値を6.5に調整し、例1と同一方法で澄明-及び滅菌濾過する。今回濾過を濾過材濾過器を介して0.2バールの圧力で行うことができる。

50 【0026】〔例3〕初乳500mlを、例2に於けると同様に処理し、濾過する。スプラ(Supra80)-フィルターによる濾過材濾過器で、希釈された脱脂初乳100mlにつき濾過助材3gを加える。この添加は、濾過割合を濾過材濾過器で改良する。次いで例1に於ける様に滅菌濾過する。

【0027】例1に於ける様にpH3.0に酸性化されていない初乳のコントロール製剤を、濾過助剤の添加後1バールの圧力でスブラ80フィルター膜濾過器を介して澄明濾過する。膜濾過器を介する滅菌濾過はできなかった。

【0028】【例4】初乳500mlを、例1に於ける様に脱脂し、次いで希釈してpH2.8に調整する。次いでpH-値を再び6.5に調整する。脱脂初乳を、スブラ80濾過剤濾過器を介して3%濾過助剤の添加下に澄明濾過し、次いでEKL-濾過器（サイツ社）を介して滅菌濾過する。

【0029】【例5】初乳500mlを、80mM NaCl-溶液2500mlで希釈し、1N塩酸でpH3.1に調整する。次いでpH-値をpH7.0に調整し、脂肪含有初乳を、スブラ80濾過材濾過器を介して3%濾過助材（ヒフロスーパーセル）の添加下に澄明濾過し、次いでEKL-滅菌濾過器を介して滅菌濾過する。

【0030】澄明-及び滅菌濾過での濾過割合が、脱脂初乳を用いた時よりも悪いとはいえ、対応してより大きい濾過面積を有する濾過も可能である。酸性化されていない、非脱脂初乳は、同一条件下に決してスブラ80-\*

\*濾過材濾過器を介して濾過されない。

【0031】【例6】例3からの滅菌された脱脂初乳1lを、膜面積0.9m<sup>2</sup>の10000D-膜を介して80mM NaCl-溶液5倍容量に対して透析濾過し、次いで同一膜を介して限外濾過する。

【0032】比較として、同一方法で希釈され、しかし酸性化されていない脱脂初乳を同一の透析濾過及び限外濾過する。

【0033】選ばれた試験系で、本発明により処理された脱脂初乳に関するパーミート(Permeat)-流動割合は、1,2バールの移動膜圧で時間及び膜面積につき111である。限外濾過の場合、脱脂初乳を、110g/lのたん白質含有量に濃縮する。

【0034】比較-製剤の場合、すでに透析濾過の間移動膜圧は短時間内で2バール以上に上昇し、流動割合は急速に減少する。膜の目詰りのために、透析濾過を中断しなければならない。限外濾過は最初から全く不可能である。

【0035】

【発明の効果】本発明によれば、初乳から滅菌濾過によって細菌が除去でき、その際初乳のすべてのたん白質成分を十分に維持することができる。

フロントページの続き

(72)発明者 ヘルベルト・デイヒテルミューラー  
ドイツ連邦共和国、ズルツバッハ/タウヌ  
ス、ロッセルトストラッセ、14

(72)発明者 ウォルフガング・シュテファン  
ドイツ連邦共和国、ドライアイヒ、フィリ  
ップ-ホルツマン-ストラッセ、84